Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA

1 plaque - 96 tests 72556

5 plaques - 480 tests 72558

TROUSSE POUR LA DÉTECTION DE L'INFECTION À VHC
DANS LE SÉRUM/PLASMA HUMAIN
PAR TECHNIQUE IMMUNO-ENZYMATIQUE



Contrôle de qualité du fabriquant

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.
Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.
La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée par notre société.



SOMMAIRE

1 - BUT DU DOSAGE

Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA est un test immuno-enzymatique qualitatif pour la mise en évidence de l'infection à VHC basé sur la détection des anticorps et de l'antigène de capside associés à une infection par le virus de l'hépatite C dans le sérum ou le plasma humain.

2 - PRINCIPE DU TEST

La microplaque est sensibilisée avec :

- Un anticorps monoclonal dirigé contre la capside de l'hépatite C.
- 2 protéines recombinantes correspondant à la région NS3 : génotype 1 et 3a.
- Une protéine recombinante correspondant à la région NS4.
- Un peptide muté correspondant à la région capside de l'hépatite C.

Les conjugués utilisés sont :

- Conjugué 1 (R6) : Un anticorps monoclonal murin biotinylé dirigé contre la capside de l'hépatite C. Cet anticorps monoclonal ne réagit pas contre le peptide muté capside utilisé sur la phase solide.
- Conjugué 2 (R7) : Le conjugué 2 est un mélange d'anticorps murins anti IgG humaines marqués à la peroxydase et de streptavidine marquée à la peroxydase

La mise en œuvre du test comprend les étapes réactionnelles suivantes :

1) Le conjugué 1 puis Les échantillons à étudier et les sérums de contrôle sont distribués dans les puits de la microplaque. Si des anticorps anti-VHC sont présents, ils se lient aux antigènes fixés sur la phase solide. Si des antigènes de capside de l'hépatite C sont présents, ces antigènes sont liés par les anticorps monoclonaux de la phase solide et les anticorps monoclonaux biotinylés du conjugué 1.
2) Après une incubation de 90 minutes à 37°C et une étape de lavage, le conjugué 2 contenant des anticorps anti IgG humaines marqués à la peroxydase et de la streptavidine marquée à la peroxydase sont ajoutés à chaque puits de la microplaque. Dans le cas de présence d'IgG humaines ayant réagi avec la phase solide, le conjugué anti IgG humain se lie aux anticorps humains. Le conjugué peroxydase/streptavidine se fixe sur la biotine du conjugué 1 dans le cas d'une présence de l'antigène de capside du virus de l'hépatite C dans l'échantillon.
3) Après 30 minutes d'incubation à 37°C et élimination des conjugués enzymatiques non liés par lavage, la présence des complexes antigène-anticorps-peroxydase sont révélés par addition du substrat.
4) Après 30 minutes d'incubation à température du laboratoire et arrêt de la réaction, la lecture s'effectue au spectrophotomètre à 450/620-700 nm. L'absorbance mesurée pour un échantillon permet de conclure quant à la présence ou l'absence d'anticorps anti-VHC et/ou d'antigène de capside de l'hépatite C dans l'échantillon testé. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-VHC et/ou d'antigène capside de l'hépatite C liés sur la phase solide.

3 - COMPOSITION DE LA TROUSSE

ETIQUETAGE	NATURE DES RÉACTIFS	PRÉSENTATION 1 plaque	5 plaques
R1	**MICROPLAQUE** 12 barrettes sensibilisées avec un anticorps monoclonal anti-capside du VHC et des antigènes recombinants purifiés (NS3, NS4) et un peptide muté de la région capside du VHC	1	5
R2	**SOLUTION DE LAVAGE CONCENTRÉE (20X)** Tampon Tris NaCl pH 7,4 Conservateur : Proclin™ 300 (0,04%)	1 flacon 70 ml	1 flacon 235 ml
R3	**CONTRÔLE NEGATIF** Tampon Tris HCl, contenant de la SAB; Conservateur : Proclin™ 300 (0,1%)	1 flacon 1 ml	1 flacon 1 ml
R4	**CONTRÔLE POSITIF** Sérum humain contenant des anticorps anti-VHC et négatif pour l'antigène HBs et pour les anticorps anti-HIV1 et anti-HIV2 dilué dans un tampon Tris HCl contenant de la S.A.B., inactivé photochimiquement Conservateur : Proclin™ 300 (0,1%)	1 flacon 1,5 ml	1 flacon 3 ml
R5a	**CONTRÔLE ANTIGÈNE POSITIF** Antigène positif synthétique de contrôle contenant un peptide de capside lyophilisé	1 flacon qsp 1 ml	1 flacon qsp 1 ml
R5b	**DILUANT DU CONTRÔLE ANTIGÈNE** Diluant du R5a. Eau contenant un conservateur : Proclin™ 300 (0,5 %)	1 flacon 1 ml	1 flacon 1 ml
R6	**CONJUGUE 1** Anticorp monoclonal murin dirigé contre la capside du VHC marqué à la biotine. Coloré en violet. Conservateur : Azide de sodium (<0,1%), Cosmocil 0,025%	1 flacon 15 ml	2 flacons 2 x 30 ml
R7	**CONJUGUE 2** Anticorps murins anti-IgG humaines marqués à la peroxydase et streptavidine marquée à la peroxydase Coloré en vert. Conservateur : Proclin™ 300 (0,5 %)	1 flacon 15 ml	2 flacons 2 x 30 ml
R8	**TAMPON SUBSTRAT DE LA PEROXYDASE** Solution d'acide citrique et d'acétate de sodium pH 4,0 contenant 0,015% d'H_2O_2 et 4% de diméthylsulfoxyde (DMSO)	1 flacon 60 ml	2 flacons 2 x 60 ml
R9	**CHROMOGÈNE** Solution contenant du tétraméthyl benzidine (TMB)	1 flacon 5 ml	2 flacons 2 x 5 ml
R10	**SOLUTION D'ARRÊT** Solution d'acide sulfurique 1 N	1 flacon 28 ml	3 flacons 3 x 28 ml

4 - MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Eau distillée ou complètement déminéralisée.
- Eau de javel et bicarbonate de soude.
- Papier absorbant.
- Gants à usage unique.
- Lunettes de protection.
- Tubes à usage unique.

- Pipettes automatiques ou semi-automatiques réglables ou fixes pouvant distribuer 50 µl, 80 µl, 100 µl, 200 µl et 1 ml.
- Eprouvettes graduées de 10 ml, 200 ml et 1000 ml.
- Agitateur type vortex.
- Système de lavage, automatique*, semi-automatique* ou manuel pour microplaque.
- Bain-marie, ou incubateur sec*, pouvant être thermostaté à 37°C ± 1°C
- Conteneur de déchets contaminés.
- Appareil de lecture* pour microplaques (équipés de filtres 490, 620, 450/620-700 nm).

(*) Nous consulter pour une information précise concernant les appareils validés par nos services techniques.

5 - CONSIGNES D'HYGIÈNE ET DE SÉCURITÉ

Tous les réactifs de la trousse sont destinés à l'usage du diagnostic *''in vitro''* et à usage professionnel.

- Ce test doit être manipulé par du personnel qualifié et habitué aux bonnes pratiques de laboratoire et avertis des dangers potentiels. Porter des vêtements appropriés, incluant des blouses de laboratoires, des lunettes de protection et des gants jetables (des gants synthétiques et sans latex sont recommandés). Manipuler les réactifs et les échantillons selon les bonnes pratiques de laboratoire. Se laver rigoureusement les mains après chaque utilisation du test.
- Porter des gants à usage unique lors de la manipulation des réactifs et des échantillons et se laver les mains soigneusement après leur manipulation.
- Ne pas ”pipeter à la bouche”.
- Le contrôle positif R4 a été inactivé photo chimiquement.
- Le matériel d’origine humaine utilisé dans la préparation du contrôle positif (R4) a été testé et trouvé non-réactif en antigène de surface du virus de l’hépatite B (Ag HBs), et en anticorps dirigés contre les virus de l’immunodéficience humaine (anti-HIV-1 et anti-HIV-2). Du fait qu’aucune méthode de test connue ne peut offrir une garantie absolue de l’absence d’agents infectieux, considérer les réactifs ainsi que tous les échantillons de patients comme potentiellement infectieux et les manipuler avec les précautions d'usage.
- Considérer le matériel directement en contact avec les échantillons et les réactifs d'origine humaine, ainsi que les solutions de lavage, comme des produits contaminés.
- Eviter les éclaboussures d'échantillons ou de solutions les contenant.
- Les surfaces souillées seront nettoyées par de l'eau de javel diluée à 10%. Si le liquide contaminant est un acide, les surfaces souillées seront neutralisées au préalable avec du bicarbonate de soude, puis nettoyées à l'aide de l'eau de javel et séchées avec du papier absorbant. Le matériel utilisé pour le nettoyage devra être jeté dans un conteneur spécial pour déchets contaminés.
- Les échantillons, les réactifs d'origine humaine ainsi que le matériel et les produits contaminés seront éliminés après décontamination
  - soit par trempage dans de l'eau de javel à la concentration finale de 5 % d'hypochlorite de sodium pendant 30 minutes,
  - soit par autoclavage à 121°C pendant 2 heures minimum.

ATTENTION : ne pas introduire dans l'autoclave des solutions contenant de l'hypochlorite de sodium.

- Eviter tout contact du tampon substrat, du chromogène et de la solution d'arrêt avec la peau et les muqueuses. Les fiches de données de sécurité sont disponibles sur demande.
- Ne pas omettre de neutraliser et/ou d'autoclaver les solutions ou effluents de lavage ou tout liquide contenant des échantillons biologiques avant de les jeter dans l'évier.
- Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium. Ce composé peut former avec des canalisations de plomb ou de cuivre des azotures métalliques hautement explosifs.
- Afin d'éviter l'accumulation de tels azotures dans les canalisations, lors de l'élimination de ces réactifs dans un évier, les neutraliser et laver l'évier à grande eau.
- Certains réactifs contiennent du ProClin™ 300 (0,04%, 0,1% et/ou 0,5%)



Xi : PRODUIT IRRITANT

R43 : peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau

S28-37 : Après contact avec la peau, se laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et du savon. Porter des gants appropriés.

La fiche de données de sécurité est disponible sur demande

6 - PRÉCAUTIONS

La qualité des résultats dépend du respect des bonnes pratiques de laboratoire suivantes :

- Ne pas utiliser des réactifs dont la validité est expirée.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents au cours d'un même essai.
- Le nom du test ainsi qu'un numéro d'identification spécifique du test sont mentionnés sur le cadre de chaque microplaque. Ce numéro d'identification spécifique figure également sur chaque barrette.

  Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA : Numéro spécifique d'identification = 55

  Cette identification doit être vérifiée avant chaque utilisation. Toute barrette dont le numéro de test est absent ou différent de celui correspondant au test réalisé, ne doit pas être utilisée.

  REMARQUE : Il est possible d'utiliser d'autres lots de solution de lavage (R2, identifié 20X en vert sur l'étiquette), de tampon substrat (R8, identifié TMB buf. en bleu), de chromogène (R9, identifié TMB 11X. en violet) et de solution d'arrêt (R10, identifié 1N en rouge), que ceux fournis dans la trousse sous réserve d'utiliser un seul et même lot de ceux-ci au cours d'un même essai. Ces réactifs peuvent être utilisés avec d'autres produits de notre société. De plus, la solution de lavage (R2, identifié 20X en vert sur l'étiquette), peut être mélangée avec l'une des deux autres solutions de lavage incluses dans les différents kits réactifs Bio-Rad (R2, identifié 10X en bleu ou 10X en orange sur l'étiquette) correctement reconstituées, à condition qu'un seul mélange soit utilisé pour une même manipulation donnée. Contacter nos services techniques pour obtenir des informations détaillées.
- Avant utilisation, attendre 30 minutes que les réactifs s'équilibrent à la température ambiante.
- Reconstituer soigneusement les réactifs en évitant toute contamination.
- Ne pas réaliser le test en présence de vapeurs réactives (acides, alcalines, aldéhydes) ou de poussières qui pourraient altérer l'activité enzymatique du conjugué.
- Utiliser une verrerie parfaitement lavée et rincée à l'eau distillée ou de préférence du matériel à usage unique.
- Ne pas laisser la microplaque sécher entre la fin du lavage et la distribution des réactifs.
- La réaction enzymatique est très sensible à tous métaux ou ions métalliques. En conséquence, aucun élément métallique ne doit entrer en contact avec les différentes solutions contenant le conjugué ou la solution substrat.
- La solution de révélation (tampon substrat + chromogène) doit être colorée en rose L'apparition d'une autre coloration dans les minutes suivant la reconstitution indique que le réactif est inutilisable et doit être remplacé.

  Pour cette préparation, utiliser de préférence des récipients et du matériel de distribution en plastique à usage unique ou de la verrerie préalablement lavée à l'acide chlorhydrique 1N, rincée à l'eau distillée et séchée. Conserver cette solution à l'abri de la lumière.
- Utiliser un cône de distribution neuf pour chaque sérum.
- Le lavage des cupules est une étape essentielle de la manipulation : respecter le nombre de cycles de lavages prescrits, et s'assurer que toutes les cupules sont complètement remplies, puis complètement vidées. Un mauvais lavage peut entraîner des résultats incorrects.
- Ne jamais utiliser le même récipient pour distribuer le conjugué et la solution de révélation.

7 - ÉCHANTILLONS

Prélever un échantillon de sang selon les pratiques en usage.

Les tests sont effectués sur des échantillons non dilués de sérum ou de plasma (collectés avec des anti-coagulants : l'EDTA, le citrate, et l'ACD). Les échantillons présentant des agrégats doivent être clarifiés par centrifugation avant le test. Les particules ou agrégats de fibrine en suspension peuvent donner des résultats faussement positifs.

Les échantillons seront conservés à +2 - 8°C si le dépistage est effectué dans les 7 jours ou peuvent

être conservés congelés à -20°C. Eviter les congélations/décongélations répétées. Si les échantillons doivent voyager, les emballer selon la réglementation en usage pour le transport des agents étiologiques et les transporter préférablement congelés.
NE PAS UTILISER DES SÉRUMS CONTAMINÉS, HYPERLIPÉMIQUES OU HYPERHÉMOLYSES.

REMARQUE : Aucune interférence n'a été mise en évidence sur des échantillons contenant jusqu'à 90 g/l d'albumine, 50 µg/l de biotine et 100 mg/l de bilirubine, ainsi que sur des échantillons lipémiques contenant jusqu'à 36 g/l de triglycérides et sur des échantillons hémolysés contenant jusqu'à 87 g/l d'hémoglobine.

Des échantillons négatifs et positifs pour la présence des anticorps anti HCV ou d'antigène du VHC on été testés avant et après traitement à 56°C pendant 30 minutes ainsi qu'après 3 cycles de congélation décongélation.
Aucun de ces traitements n'a d'impact sur la détection des anticorps. Toutefois le traitement à la chaleur diminue de façon significative la réponse pour la détection de l'antigène du VHC pour la trousse Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA.

8 - RECONSTITUTION DES RÉACTIFS-VALIDITÉ - CONSERVATION

Avant l'utilisation des réactifs de la trousse Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA, les laisser équilibrer à température ambiante pendant 30 minutes.

1) Réactifs prêts à l'emploi

Microplaque (R1)
Chaque support cadre contenant 12 barrettes est conditionné en sachet aluminium scellé. Couper le sachet à l'aide de ciseaux ou scalpel 0,5 à 1 cm au-dessus de la soudure. Ouvrir le sachet et sortir le cadre. Replacer dans le sachet les barrettes inutilisées. Refermer le sachet soigneusement et le replacer à +2-8°C.

Conjugué 1 prêt à l'emploi (R6)
Homogénéiser par retournement avant utilisation.

Conjugué 2 prêt à l'emploi (R7)
Homogénéiser par retournement avant utilisation.

2) Réactifs à reconstituer

Solution de lavage R2 (20X)
Diluer 20 fois la solution dans l'eau distillée. On obtient ainsi la solution de lavage prête à l'emploi. Prévoir 800 ml pour une plaque de 12 barrettes.

Solution de révélation enzymatique (R8 + R9)
Diluer le réactif R9 dans le réactif R8 au 1/11e (exemple : 1 ml de réactif R9 dans 10 ml de réactif R8) sachant que 10 ml sont nécessaires et suffisants pour traiter 12 barrettes. Homogénéiser.

Antigène positif de contrôle (R5a + R5b) : Solution de travail.
Remplir le flacon de R5a avec la totalité de la solution du flacon R5b.
Reboucher et attendre 10 minutes à température du laboratoire en agitant de temps en temps le flacon par inversion du flacon.

3) Validité

La trousse doit être gardée à +2-8°C. Chaque élément de la trousse conservé à +2-8°C peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret (sauf indication spécifique)
R1 : Après ouverture du sachet sous vide, les barrettes conservées à +2-8°C dans leur sachet d'origine, refermé avec soin, sont stables pendant 1 mois.
R2 : La solution de lavage diluée peut être conservée à +2-30°C pendant 2 semaines. La solution de lavage concentrée (R2) peut être conservée à +2- 30°C.
R5a + R5b : La solution de travail de l'antigène positif de contrôle peut être conservée 1 mois à +2-8°C et 2 mois à -20°C (jusqu'à 5 cycles de congélation/décongélation après congélation à -20°C).
R8 + R9 : Après reconstitution, les réactifs conservés à l'obscurité sont utilisables pendant 6 heures à la température ambiante (18-30°C).

9 - MODE OPÉRATOIRE

- Suivre strictement le protocole proposé.
- Utiliser les sérums de contrôle négatif et positif à chaque mise en œuvre du test pour valider la qualité du test.
- Appliquer les bonnes pratiques de laboratoire.

Protocole

1) Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons.
2) Préparer la solution de lavage diluée R2 et la solution de travail de l'antigène positif de contrôle (R5a + R5b).
3) Sortir le cadre support et les barrettes (R1) de l'emballage protecteur.
4) Déposer directement, sans prélavage de la plaque, successivement :
   4.1 100 µl de conjugué 1 (R6) dans chaque cupule
   4.2 50 µl de contrôle négatif (R3) en A1,
   50 µl de contrôle positif (R4) en B1,C1, D1,
   50 µl de la solution de travail de l'antigène positif de contrôle (R5a + R5b) en E 1,
   50 µl du premier échantillon en F1,
   50 µl du deuxième échantillon en G1, etc...

   Homogénéisez le mélange par 3 aspirations minimum ou avec un agitateur de microplaque durant 5 secondes. Si la distribution des échantillons excède 10 mn, il est alors recommandé de distribuer les contrôles négatifs et positifs après les échantillons à tester.

   En fonction du système utilisé, il est possible de modifier la position ou l'ordre de distribution des contrôles.

   NB : Après ajout de l'échantillon, le puits contenant l'échantillon (ou les contrôles) + le conjugué 1 vire du violet au bleu. Il est possible de vérifier par lecture spectrophotométrique à 620 nm la présence des échantillons dans les cupules (cf. chapitre 12 : VÉRIFICATION SPECTROPHOTOMÉTRIQUE DU DÉPÔT DES ÉCHANTILLONS ET DU CONJUGUÉ).
5) Couvrir si possible d'un film autocollant en appuyant bien sur toute la surface pour assurer l'étanchéité.
6) Incuber la microplaque au bain-marie thermostaté ou dans un incubateur sec de microplaques pendant : 90 ± 5 minutes à 37°C ± 1°C.
7) Retirer le film adhésif. Aspirer le contenu de toutes les cupules dans un conteneur pour déchets contaminés (contenant de l'hypochlorite de sodium) et ajouter dans chacune d'elles un minimum de 0,370 ml de solution de lavage. Aspirer de nouveau. Répéter le lavage 4 fois (un minimum de 5 lavages). Le volume résiduel doit être inférieur à 10 µl (si nécessaire, sécher la plaque par retournement sur une feuille de papier absorbant).

Si l'on dispose d'un laveur automatique, respecter le même cycle opératoire.

8) Distribuer rapidement 100 µl de la solution de conjugué 2 (R7) dans toutes les cupules. Le conjugué doit être agité avant emploi. Recouvrir, si possible, d'un film neuf et incuber pendant : 30 ± 5 minutes à 37°C ± 1°C.

   NB : Le conjugué est d'une coloration verte. Il est possible de vérifier par lecture(s) spectrophotométrique(s) à 620 nm la présence du conjugué dans les cupules (cf. chapitre 12 : VÉRIFICATION SPECTROPHOTOMÉTRIQUE DU DÉPÔT DES ÉCHANTILLONS ET DU CONJUGUÉ).
9) Retirer le film adhésif, vider toutes les cupules par aspiration et laver 5 fois comme précédemment
10) Préparer la solution de révélation (cf. chapitre 8, réactif R8 + R9).
11) Distribuer rapidement dans toutes les cupules 80 µl de la solution de révélation de l'activité enzymatique (R8 + R9) préalablement préparée. Laisser la réaction se développer à l'obscurité pendant 30 ± 5 minutes à température ambiante (18 à 30°C). Lors de cette incubation, ne pas utiliser de film adhésif.

    N.B.: La distribution de la solution de révélation, qui est colorée en rose, peut être contrôlée visuellement à ce stade de la manipulation : Il y a une différence de coloration significative entre une cupule vide et une cupule contenant la solution de révélation rosée. (se reporter au paragraphe 12 pour la vérification automatique VÉRIFICATION SPECTROPHOTOMÉTRIQUE DU DÉPÔT DES ÉCHANTILLONS ET DES RÉACTIFS).
12) Ajouter 100 µl de la solution d'arrêt (R10) en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation.

N.B.: La distribution de la solution d'arrêt, qui est incolore, peut être contrôlée visuellement à ce stade de la manipulation. La coloration du substrat, rosée (pour les échantillons négatifs) ou bleue (pour les échantillons positifs), disparaît des cupules qui deviennent incolores (pour les échantillons négatifs) ou jaunes (pour les échantillons positifs) après addition de la solution d'arrêt.

13) Essuyer soigneusement le dessous des plaques. Attendre au moins 4 minutes après la distribution de la solution d'arrêt, et, dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction, lire la densité optique à 450/620-700 nm à l'aide d'un lecteur de plaques

14) S'assurer avant la transcription des résultats de la concordance entre la lecture et le plan de distribution et d'identification des plaques et des échantillons.

10 - ADAPTATION SYSTÈME

LAVAGE : Il est indispensable de respecter les procédures de lavage afin d'obtenir les performances maximales du test. Pour certains instruments il peut être nécessaire d'augmenter le nombre de cycles de lavages pour atteindre un bruit de fond acceptable.

11 - CALCUL ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

La présence ou l'absence des anticorps anti-HCV et/ou de l'antigène de capside du VHC est déterminée en comparant pour chaque échantillon l'absorbance enregistrée à celle de la valeur seuil calculée.

1. Calculer la moyenne des absorbances mesurées pour le contrôle positif R4

Exemple : Contrôle positif R4

Echantillon	Densité optique
B1	1,636
C1	1,704
D1	1,650
Total	4,990

$$DO\ R4 = \frac{\text{Densité Optique Totale}}{3} = \frac{4{,}990}{3} = 1{,}663$$

2. Calcul de la valeur seuil (Vs)

$$Vs = \frac{\text{Moyenne DO R4}}{4}$$

Exemple : Moyenne DO R4 = 1,663

$$Vs = \frac{1{,}663}{4} = 0{,}415$$

3. Les critères de validation sont les suivants

a) Pour le contrôle négatif R3 : l'absorbance mesurée doit être inférieure à 0,6 fois la D.O de la valeur seuil.

b) Pour le contrôle positif R4.

La moyenne des absorbances mesurées doit être supérieure ou égale à 0,800 et inférieure ou égale à 2,400.

Si l'une des valeurs individuelles du contrôle positif s'écarte de plus de 30 % de la moyenne, refaire le calcul avec les deux valeurs de contrôle positif restantes.

c) Pour la solution de travail de l'antigène positif de contrôle (R5a + R5b).

La densité optique mesurée doit être supérieure à 0.500.

Le test est invalidé si le contrôle négatif R3, la solution de travail de l'antigène positif de contrôle (R5a + R5b), la solution de travail de l'antigène positif de contrôle (R5a + R5b). et/ou plus d'une valeur du contrôle positif R4 sont hors de l'intervalle des valeurs ci-dessus.

4. Interprétation des résultats

Les échantillons dont la densité optique est inférieure à la valeur seuil sont considérés négatifs d'après le test Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA.

Toutefois, les résultats situés juste au dessous de la valeur seuil (VS-10 % <DO<VS)doivent être interprétés avec prudence et il est conseillé de tester de nouveau les échantillons correspondant en double lorsque les systèmes utilisés et les procédures du laboratoire le permettent.

Les échantillons dont la densité optique est supérieure ou égale au seuil sont considérés comme initialement positifs et doivent être re-testés en double avant l'interprétation finale.

Après répétition de l'essai, l'échantillon est considéré positif d'après le test Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA si la deuxième et/ou la troisième mesure est (sont) positive(s), c'est-à-dire supérieure ou égale à la valeur seuil. L'échantillon est considéré négatif si ces deux valeurs sont trouvées inférieures à la valeur seuil.

12 - VÉRIFICATION SPECTROPHOTOMÉTRIQUE DU DÉPÔT DES ÉCHANTILLONS ET DU CONJUGUÉ : (OPTIONNEL)

VÉRIFICATION DU DÉPÔT DU CONJUGUÉ 1 (R6) ET DES ÉCHANTILLONS LORS DE LA PREMIÈRE ÉTAPE

La présence simultanée du conjugué 1 (R6) et de l'échantillon (ou du contrôle) peut être vérifiée par une lecture spectrophotométrique à 620 nm.

Chaque puits contenant simultanément le conjugué 1 (R6) et un échantillon (ou un contrôle) doit présenter une densité optique supérieure à 0,800.

REMARQUE : après ajout de l'échantillon, le conjugué 1 (R6) vire du violet au bleu

VÉRIFICATION DU DÉPÔT DU CONJUGUÉ 2 (R7) LORS DE LA DEUXIÈME ÉTAPE

Remarque : le conjugué 2 (R7) est de coloration verte.

La présence de conjugué 2 (R7) dans les cupules peut être vérifiée par lecture spectrophotométrique à 620 nm :

la valeur de DO mesurée pour chaque cupule devra être supérieure à 0,300 (une valeur se situant en dessous de cette norme indique une mauvaise distribution du conjugué).

VÉRIFICATION DU DÉPÔT DE LA SOLUTION DE RÉVÉLATION

Il est possible de vérifier la présence de la solution de révélation rosée par lecture automatique à 490 nm : une cupule contenant la solution de révélation doit avoir une densité optique supérieure à 0,100 (une DO plus faible indique une mauvaise distribution de la solution de révélation)

Il y a une différence de coloration significative entre une cupule vide et une cupule contenant la solution de révélation rosée.

13 - PERFORMANCES DU TEST

A - ÉTUDE DE LA SPÉCIFICITÉ

Des échantillons provenant de donneurs de sang et de patients ont été testés avec la trousse Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA en comparaison avec le test utilisé en routine sur différents sites afin de déterminer la spécificité de cet essai.

Spécificité sur une population de donneurs de sang.

L'étude a été pratiquée sur 3 sites différents à partir de donneurs habituels ou de nouveaux donneurs.

Sites	EFS Rungis France	EFS Bordeaux France	Donneurs de Montpellier France	Total
Nb d'échantillons testés	2410	2503	2248	7161
Nb d'échantillons positifs répétables	5	3	4	12

Sur 7161 échantillons de donneurs de sang testés, 12 échantillons ont donné un résultat positif répétable avec la trousse Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA mais n'ont pas été confirmés positifs par diagnostic génomique (PCR) ou par immunoblot HCV PLUS Deciscan™.

La spécificité sur cette population de donneurs est de 99,83% (99,71% à 99,91% pour un intervalle de confiance à 95%).

Spécificité sur une population de patients hospitalisés

Une étude prospective a été réalisée sur 469 échantillons provenant de 2 sites hospitaliers différents. 440 échantillons sur 469 testés ont donné un résultat négatif avec le test Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA et avec le test utilisé en routine, 22 échantillons ont été trouvés positifs avec ces deux tests dont 21 ont été confirmés positifs en Immunoblot HCV PLUS Deciscan™™ et un positif probable.
7 échantillons ont présentés des résultats discordants entre la trousse Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA, l'immunoblot HCV PLUS Deciscan™ et la PCR. Pour ces 7 échantillons les résultats sont les suivants :

- 2 échantillons sont positifs avec le test utilisé en routine et négatifs avec le test Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA ainsi qu'en PCR et en immunoblot HCV PLUS Deciscan™. Ces échantillons peuvent être considérés comme faux positifs probables avec le test de routine.
- Pour 2 échantillons aucune conclusion n'a pu être faite, les résultats du test de PCR étant non interprétables. Ces échantillons ont été exclus du calcul de la spécificité.
- Un échantillon a été obtenu positif dans le test de routine, négatif avec le test Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA, indéterminé en immunoblot HCV PLUS Deciscan™ et négatif avec le test de PCR.
- Seuls 2 échantillons faiblement positifs avec le test Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA (ratio inférieur à 1,7) et avec le test de routine utilisé par le laboratoire ont donnés un résultat négatif avec le test de PCR et indéterminés avec le test d'immunoblot HCV PLUS Deciscan™ (faible bande en NS4).

La spécificité calculée à partir de cette étude est de 99.5% (443/445) si l'on considère les 2 derniers échantillons comme faux positifs et 100% si ils sont considérés comme de vrais positifs due à la présence d'anticorps résiduels suite à une infection ancienne (indéterminés en immunoblot).

Spécificité sur des échantillons potentiellement interférents

429 échantillons pouvant entraîner des réactions croisées pour un test de détection des anticorps anti VHC ont été testés avec la trousse Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA. Les échantillons testés provenaient de :

- Patients souffrant d'infections à hépatite B, hépatite A, rubéole, toxoplasmose, oreillons, rougeole, CMV, VHS, VEB, VZV, HTLV I, VIH, Chagas, Flavivirus, patients vaccinés contre la grippe.
- Patients positifs en facteur rhumatoïde.
- Patients souffrant de maladies auto immune (type SLE) avec présence de myélome, HAMA et ANA.
- Femmes enceintes, patients cirrhotiques, sous dialyse, patients souffrant d'insuffisance rénale.

Parmi ces 429 échantillons, un seul a été trouvé positif en Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA ainsi qu'avec un test de routine de détection des anticorps anti VHC. enregistré CE.
La spécificité obtenue est donc de 100% (428/428) sur cette population.

B - ÉTUDE DE LA SENSIBILITÉ

La sensibilité a été évaluée sur une large série d'échantillons positifs provenant de patients infectés par le VHC dont des panels commerciaux de séroconversions , des échantillons provenant de sites experts et des échantillons provenant de Bio-Rad.
Les échantillons testés sont présentés ci dessous.

Sensibilité sur les échantillons confirmés positifs pour l'infection au VHC

Un total de 646 échantillons provenant pour la plupart d'infections chroniques au VHC (présence d'anticorps anti VHC) ont été testés. 405 échantillons étaient génotypés.
La totalité de ces 646 échantillons sont réactifs avec la trousse Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA. La sensibilité calculée est donc de 100% sur cette population.
25 échantillons positifs frais additionnels (≤ 1 jour après le prélèvement) ont été testés et tous ont été trouvés positifs.

Sensibilité sur les échantillons génotypés positifs VHC

Un total de 405 échantillons génotypés ont été testés dont 133 échantillons d'origine diverse et 272 échantillons provenant de laboratoires hospitaliers
La répartition des génotypes testés est la suivante :

Genotype	1a	1b	1c	1d	1a/b	2	2a	2b	2c	2i	2a/c	3	3a	3b	
Numbre	53	83	2	3	3	31	7	18	4	1	17	25	77	1	
Genotype	3a/b	4	4a	4c	4d	4h	4k	4f	4c/d	5a	6a	6d	1b, 2a/2	1a/b, 2a/c	Total
Numbre	2	10	21	6	5	2	2	3	1	24	1	1	1	1	405

Tous les échantillons ont été trouvés positifs : sensibilité 100%.

Sensibilité sur des échantillons provenant d'infections aiguës

La sensibilité a été évaluée sur des échantillons provenant de la phase aiguë de l'infection à VHC (phase initiale de l'infection). Un total de 53 panels de séroconversion correspondant à 421 échantillons ont été testés avec la trousse Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA et comparés à une trousse de détection des anticorps anti-VHC enregistrée CE.

La trousse Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA détecte l'infection de manière plus précoce sur pratiquement tous les panels : 119 échantillons supplémentaires détectés par rapport à une trousse de détection des anticorps anti-VHC (trousse anti-VHC).

53 panels de séroconversion (421 échantillons)	**Trousse anti-VHC**	**Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA**
Nombre d'échantillons positifs	152	271

Parmi ces panels de séroconversion, 11 débutent par un échantillon non virémique, ce qui permet une estimation plus précise de la fenêtre sérologique (phase négative en anticorps anti-VHC).

Panel	**Genotype**	**Délai d'apparition de la positivité depuis le premier prélèvement (en jours)**			**Différence entre trousse anti-VHC et Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA (en jours)**
		ARN VHC **	**Trousse anti-VHC**	**Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA**	
BCP-6211	1a	140	186	140	46
BCP-6213	1a	11	43	30	13
BCP-6222	1a	17	40	17	23
BCP-6225	1a	45	78	45	33
BCP-6227	1a	42	74	46	28
BCP-9041	1a	24	62	24	38
BBI-PHV919	1a	25	28	28	0
BCP-9054	3a	52	60	52	8
BCP-9055	NG*	31	68	33	35
BCP-6216	NG*	23	23	23	0
NABI-SC90	NG*	10	52	10	42
Moyenne en jours		38.2	64.9	40.7	24.2

** Non génotypé*

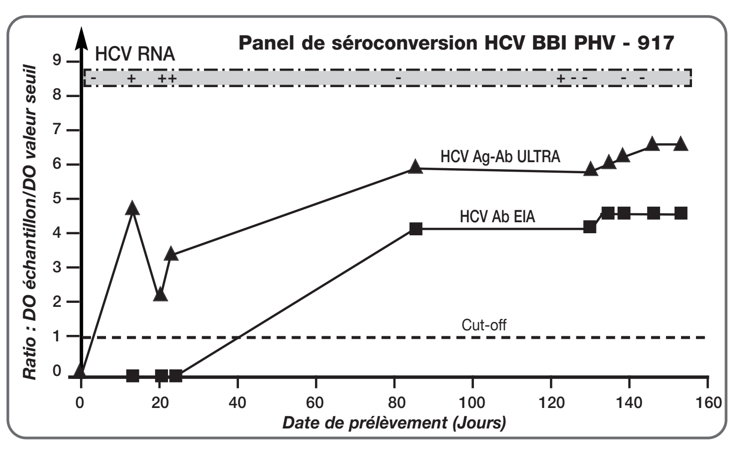
*** Les résultats des tests RNA sont ceux indiqués par les fournisseurs de panels.*

Dans ces 11 panels, la trousse Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA détecte en moyenne 24 jours plus tôt l'infection à VHC comparé à une trousse anti-VHC. Ce bénéfice est principalement dû à la détection de l'antigène de capside du VHC utilisée dans la trousse Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA.

Sensibilité antigénique

L'apport de la sensibilité antigénique peut être mise en évidence sur les panels de séroconversions commerciales; par exemple sur le panel BBI 917.

Sur cette courbe on peut comparer la sensibilité du kit Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA à un test de détection des anticorps anti VHC.



Précision

La précision du test Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA a été déterminée par l'analyse de 7 échantillons : 1 échantillon négatif en anticorps du VHC, 3 échantillons positifs en anticorps anti VHC et 3 échantillons positif en Ag du VHC.

La répétabilité (intra-essai) a été évaluée par l'analyse de ces 7 échantillons qui ont été testés 30 fois au cours de la même manipulation.

La reproductibilité (inter-essai) a été évaluée par l'analyse de ces 7 mêmes échantillons qui ont été testés en double pendant 20 jours à raison de 2 essais indépendants chaque jour (NCCLS EP5 procédure). Les résultats sont regroupés dans les tableaux suivants :

Tableau 1 : Répétabilité intra - essai

Echantillon	Ratio Moyen	DS	CV%
Négatif Ag-Ac VHC	0,14	0,01	6,1
Faible positif Ac VHC	1,12	0,04	3,65
Positif Médium Ac VHC	2,39	0,08	3,39
Positif Fort Ac VHC	4,88	0,18	3,7
Faible positif Ag VHC	1,14	0,03	3,04
Positif Médium Ag VHC	1,97	0,06	3,02
Positif Fort Ag VHC	5,86	0,14	2,38

Les CV obtenus pour les 6 échantillons positifs sont inférieurs à 10%.

Tableau 2 : Reproductibilité inter - essai

Echantillon	Ratio Moyen	DS	CV%
Négatif Ag-Ac VHC	0,16	0,02	12,4
Faible positif Ac VHC	1,2	0,08	6,65
Positif Médium Ac VHC	2,39	0,13	5,38
Positif Fort Ac VHC	4,77	0,17	3,58
Faible positif Ag VHC	1,13	0,09	7,97
Positif Médium Ag VHC	2,0	0,15	7,73
Positif Fort Ag VHC	5,99	0,37	6.2

Les CV obtenus pour les 6 échantillons positifs sont inférieurs à 15%.

14 - LIMITES DU TEST

En raison de la diversité des réponses immunologiques des patients infectés par le virus de l'hépatite C (notamment lors de séroconversions), des différences de détection entre tests peuvent être observées en fonction de la nature des protéines antigéniques utilisées. Un résultat analytique

négatif lors d'un test de dépistage n'exclut donc pas la possibilité d'une exposition ou d'une infection par le virus de l'hépatite C.

Toute technique ELISA peut produire des réactions faussement positives. Il est conseillé de vérifier la spécificité de la réaction pour tout échantillon trouvé positif répétable, selon les critères d'interprétation de la trousse Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA, par une méthode appropriée : utilisation d'un test ELISA de dépistage des anticorps anti -VHC seul ou par un test immuno-Blot pour prouver la présence d'anticorps anti-VHC. Si nécessaire, utiliser un test de recherche du génome viral du VHC ou un test spécifique de dépistage des antigènes du VHC puis un test de neutralisation.

La méthode colorimétrique de vérification du dépôt des échantillons et/ou des conjugués et/ou de la solution de révélation ne permet pas de vérifier l'exactitude des volumes distribués mais seulement de montrer la présence d'échantillon et/ou des conjugués et/ou de la solution de révélation. Le taux de réponses erronées obtenues avec cette méthode est lié à la précision du système utilisé (des CV cumulés de pipetage et de lecture supérieurs à 10% peuvent dégrader significativement la qualité de cette vérification).

15 - RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Busch MP, Kleinman SH. Committee report : nucleic acid amplification testing of blood donors for transfusion-transmitted infectious diseases. Report of the Interorganizational Task Force on Nucleic Acid Amplification Testing on Blood Donors. Transfusion. 2000, 40 : 143-159.
- Busch MP, Kleinman, SH, Nemo GJ. Current and emerging infectious risks of blood transfusions. JAMA. 2003, 289 : 959-962.
- Bouvier-Alias M, Patel K, Dahari H, Beaucourt S, Larderie P, Blatt L, Hezode C, Picchio G et al. Clinical utility of total core HCV core antigen quantification : a new indirect marker of HCV replication. Hepatology. 2002, vol 36 : 211-218.
- Jackson BR, Busch MP, Stramer SL, AuBuchon JP. The cost-effectiveness of NAT fot HIV, HCV and HBV in whole–blood donations. Transfusion. 2003, 43 : 721-729.
- Lambert N, Vermet L, Bordier M, Clément A, Costaille M, Prigent V, Flecheux O, Sanjuan A et al. Performance features of the new Bio-Rad HCV antigen and antibody assay : Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA. Vox sanguinis. 2004, 87 (suppl 3) : 61-62.
- Laperche S, Le Marrec N, Simon N, Bouchardeau F, Defer C, Maniez-Montreuil M, Levayer T, Zappitelli JP, Lefrère JJ. A new HCV core antigen assay based on disassociation of immune complexes : an alternative to molecular biology in the diagnosis of early HCV Infection. Transfusion. 2003, 43 : 958-962.
- Nübling CM, Unger G, Chudy M, Raia S, Löwer J. Sensitivity of HCV core antigen and HCV RNA detection in the early infection phase. Transfusion. 2002. 42 : 1037-1045.∑ Masalova OV, Atanadze SN, Samokhvalov EI, Petrakova NV, Kalinina TI, Smirnov VD, Khudyakov YE, Fields HA, Kushch AA. Detection of hepatitis C virus core protein circulating within different virus particle populations. Journal of Medical Virology. 1998, 55 : 1-6.
- Pawlotsky JM. Use and interpretation of virological tests for hepatitis C. Hepatology. 2002, 36 : 565-573.
- Pillonel J, Laperche S, Saura C, Desenclos JC, Couroucé AM et al.. Trends in residual risk of transfusion-transmitted viral infections in France between 1992 and 2000. Transfusion. 2002, 42 : 980-988.
- Simmonds P. HCV heterogeneity : the science and the practice. In Hepatitis C. 1998. Yanamouchi Europe BV Ed. p 3-10.
- Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management and treatment of Hepatitis C. AASLD Practice Guideline. Hepatology. 2004, 39 : 1147-1171.
- Centers for Disease Control. Guidelines for Laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. MMWR 2003, 52 : RR-3.
- EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Consensus Statement. Journal of Hepatology. 1999, 30 : 956-961.
- NIH Consensus Statement on Management of hepatitis C : 2002. NIH Consensus and State-of-the-Science Statements. 2002, 19 N°3. 46p.

CE

(GB) - CE marking (European directive 98/79/CE on *in vitro* diagnostic medical devices)
(FR) - Marquage CE (Directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*)
(ES) - Marcado CE (Directiva europea 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*)
(IT) - Marchiatura CE (Direttiva europea 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro*)
(DE) - CE Konformitätskennzeichnung (Europäische Richtlinie 98/79/EG über *In-vitro*-Diagnostika)
(PT) - Marcação CE (Directiva europeia 98/79/CE relativa aos dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*)
(SE) - CE-märkning (Europeiskt direktiv 98/79/EG om medicintekniska produkter för *in vitro*-diagnostik)
(DK) - CE-mærkning (Europa direktiv 98/79/EF om medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostik)
(GR) - Χαρακτηρισμος CE (ευρωπαικη οδηγια 98/79/CE περι *in vitro* διαγνωστικες ιατρικες συσκευες)
(PL) - CE oznaczenie (Dyrektywa unijna 98/79/CE dotycząca produktów medycznych do badań *in vitro*)
(LT) - CE ženklas (Europos sajungos direktyva 98/79/CE dėl *in vitro* diagnostikos medicinos prietaisų)
(HU) - CE jelzés (98/79/CE Európai Irányelv az *in vitro* orvosi diagnosztikai eszközökről)
(EE) - CE märgistus (Euroopa direktiiv 98/79/CE *in vitro* diagnostikameditsiiniseadmete kohta)
(SK) - CE označenie o zhode (Európska direktíva 98/79/CE pre *in vitro* diagnostické zdravotnícke postupy)
(CZ) - CE značka (Evropská direktiva 98/79/CE o diagnostických zdravotnických prostředcích *in vitro*)
(NO) - CE-merking (EU-direktiv 98/79/CE om medisinsk utstyr til *in vitro*-diagnostikk)
(RO) - Marca CE (Directiva europeana 98/79/CE pentru dispozitive medicale de diagnostic *in vitro*)
(BG) - CE маркировка (Европейска директива 98/79/CE за *ин витро* диагностичните медицински изделия)

IVD

(GB) - For *in vitro* diagnostic use
(FR) - Pour diagnostic *in vitro*
(ES) - Para diagnóstico *in vitro*
(IT) - Per uso diagnostico *in vitro*
(DE) - *In-vitro*-Diagnostikum
(PT) - Para uso em diagnóstico *in vitro*
(SE) - *In vitro*-diagnostik
(DK) - Til *in vitro*-diagnostik
(GR) - Για *in vitro* διαγνωστικη χρηση
(PL) - Do stosowania *in vitro*
(LT) - *in vitro* diagnostikai
(HU) - Csak *in vitro* diagnosztikai alkalmazásra
(EE) - *In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks
(SK) - Na diagnostiku *in vitro*
(CZ) - Pro diagnostiku *in vitro*
(NO) - Til *in vitro*-diagnostikk
(RO) - Pentru diagnostic *in vitro*
(BG) - За *ин витро* диагностика

REF

(GB) - Catalogue number
(FR) - Référence catalogue
(ES) - Número de catálogo
(IT) - Numero di catalogo
(DE) - Bestellnummer
(PT) - Número de catálogo
(SE) - Katalognummer
(DK) - Katalognummer
(GR) - Αριθμος καταλογου
(PL) - Numer katalogu
(LT) - Katalogo numeris
(HU) - Cikkszám
(EE) - Kataloginumber
(SK) - Katalógové číslo
(CZ) - Katalogové číslo
(NO) - Katalognummer
(RO) - Număr de catalog
(BG) - Каталожен номер

(GB) - Manufacturer
(FR) - Fabricant
(ES) - Fabricante
(IT) - Produttore
(DE) - Hersteller
(PT) - Fabricante
(SE) - Tillverkad av
(DK) - Fremstillet af
(GR) - Κατασκευαστης
(PL) - Producent
(LT) - Gamintojas
(HU) - Gyártó
(EE) - Tootja
(SK) - Výrobca
(CZ) - Výrobce
(NO) - Produsent
(RO) - Producător
(BG) - Производител

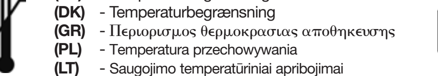
EC REP

(GB) - Authorised Representative
(FR) - Représentant agréé
(ES) - Representante autorizado
(IT) - Distributore autorizzato
(DE) - Bevollmächtigter
(PT) - Representante Autorizado
(SE) - Auktoriserad representant
(DK) - Autoriseret repræsentant
(GR) - Εξουσιοδοτημενος αντιπροσωπος
(PL) - Upoważniony Przedstawiciel
(LT) - Įgaliotasis atstovas
(HU) - Meghatalmazott Képviselő
(EE) - Volitatud esindaja
(SK) - Autorizovaný zástupca
(CZ) - Zplnomocněný zástupce
(NO) - Autorisert representant
(RO) - Reprezentant autorizat
(BG) - Упълномощен представител

LOT

(GB) - Batch code
(FR) - Code du lot
(ES) - Código de lote
(IT) - Codice del lotto
(DE) - Chargen-Bezeichnung
(PT) - Código do lote
(SE) - Batchnr
(DK) - Batchnummer
(GR) - Κωδικας παρτιδας
(PL) - Numer serii
(LT) - Serijos numeris
(HU) - Gyártási szám
(EE) - Partii kood
(SK) - Číslo šarže
(CZ) - Číslo šarže
(NO) - Partikode
(RO) - Număr de lot
(BG) - Партиден номер

(GB) - Expiry date YYYY/MM/DD
(FR) - Date de peremption AAAA/MM/JJ
(ES) - Estable hasta AAAA/MM/DD
(IT) - Da utilizzare prima del AAAA/MM/GG
(DE) - Verwendbar bis JJJJ/MM/TT
(PT) - Data de expiração AAAA/MM/DD
(SE) - Utgångsdatum ÅÅÅÅ/MM/DD
(DK) - Anvendes før ÅÅÅÅ/MM/DD
(GR) - Ημερομηνια ληξης YYYY/MM/DD
(PL) - Data ważności YYYY/MM/DD
(LT) - Galioja iki YYYY/MM/DD
(HU) - Szavatossági idő ÉÉÉÉ/HH/NN
(EE) - Aegumistähtaeg AAAA/KK/PP
(SK) - Použiteľné do RRRR/MM/DD
(CZ) - Datum exspirace RRRR/MM/DD
(NO) - Utløpsdato ÅÅÅÅ/MM/DD
(RO) - Data expirarii AAAA/LL/ZZ
(BG) - Срок на годност година/месец/ден



(GB) - Storage temperature limitation
(FR) - Limites de températures de stockage
(ES) - Temperatura límite
(IT) - Limiti di temperatura di conservazione
(DE) - Lagertemperatur
(PT) - Limites de temperatura de armazenamento
(SE) - Temperaturbegränsning
(DK) - Temperaturbegrænsning
(GR) - Περιορισμος θερμοκρασιας αποθηκευσης
(PL) - Temperatura przechowywania
(LT) - Saugojimo temperatūriniai apribojimai
(HU) - Tárolási hőmérsékleti határok
(EE) - Piirangud säilitustemperatuurile
(SK) - Skladovacia teplota od do
(CZ) - Teplotní rozmezí od do
(NO) - Oppbevaringstemperatur
(RO) - Limitele de temperatură la stocare
(BG) - Температурни граници на съхранение

(GB) - Consult Instruction for use
(FR) - Consulter le mode d'emploi
(ES) - Consulte las instrucciones de uso
(IT) - Consultare le istruzioni per uso
(DE) - Siehe Gebrauchsanweisung
(PT) - Consulte o folheto informativo
(SE) - Se bruksanvisningen
(DK) - Se brugsanvisningen
(GR) - Συμβουλευθειτε τις οδηγιες χρησης
(PL) - Sprawdź instrukcję
(LT) - Ieškokite informacijos vartojimo instrukcijoje
(HU) - Olvassa el a használati utasítást
(EE) - Kasutamisel vaata instruktsiooni
(SK) - Katalógové číslo
(CZ) - Viz návod k použití
(NO) - Se bruksanvisninger
(RO) - Consultati prospectul de utilizare
(BG) - Виж инструкцията за употреба

Bio-Rad
3, bd Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette - France
Tél.: +33 1 47 95 60 00
Fax.: +33 1 47 41 91 33



11/2010
Code: 883607